PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

(43) Date of publication of application: 14.01.1991

(51)Int.Cl.

C12P 19/60 A23L 1/30 A61K 7/00 A61K 31/70 CO7H 17/07

(21)Application number: 01-141902

(71)Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

(22)Date of filing:

03.06.1989

(72)Inventor: TSUCHIYA HIROMI

MIYAKE TOSHIO

(54) ALPHA-GLYCOSYL HESPERIDIN, PRODUCTION AND USE THEREOF

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain α -glycosyl hesperidin having excellent water solubility and excellent physiological activity free from toxicity industrially and advantageously by linking ≥ equimolar amount of D-glucose residue to hesperidin by α bond.

CONSTITUTION: Hesperidin is dissolved in a solution having pH ≥7.0 so as to make 0.01-10.0w/v% and blended with 0.5-50 times as much α -glucosyl saccharide compound such as dextrin as hesperidin to give a blended solution. Then the blended solution is mixed with a glycosyltransferase derived from Bacillus stearothermophilus and reacted at pH7.5-10.0 at 50-80° C for about 24 hours to give a reaction solution. Then the reaction solution is heated, filtered to remove insoluble substances, the resulting substance is brought into contact with a porous synthetic adsorbent comprising nonionic styrene-divinylbenzene polymer and purified to collect α -glycosyl hesperidin. Then the hesperidin is contained as an active ingredient to give an drug for alleviating sensitivity diseases or cosmetic.

19 日本国特許庁(JP)

① 特許出願公開

⑩ 公 開 特 許 公 報(A) 平3-7593

| Int. Cl. 5 | 識別記号 | 庁内整理番号 | ❸公開 | 平成3年(1991)1月14日 |
|--|-------------|--|-------|-----------------------|
| C 12 P 19/60 A 23 L 1/30 A 61 K 7/00 | Z F X | 8214-4B 8114-4B 8413-4C 8413-4C | | |
| C 07 H 17/07 | ABF | 7431-4C 7822-4C 審査請求 | 未請求 言 | 請求項の数 6 (全14頁) |

竪発明の名称 αーグリコシル ヘスペリジンとその製造方法並びに用途

②特 願 平1-141902

②出 願 平1(1989)6月3日

⑫発 明 者 土 屋 裕 美 岡山県岡山市小山90番地の2

⑫発 明 者 三 宅 俊 雄 岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号

①出 願 人 株式会社林原生物化学 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

研究所

明 細 審

1. 発明の名称

αーグリコシル ヘスペリジンとその製造方法 並びに用途

2. 特許請求の範囲

- (1) ヘスペリジンに D ーグルコース残基が等モル以上α結合しているαーグリコシル ヘスペリジン。
- (2) ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に搪転移酵素を作用させてαーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、これを採取することを特徴とするαーグリコシル ヘスペリジンの製造方法。
- (3) ヘスペリジンと α ー グルコシル糖化合物とを含有する溶液に糖転移酵素を作用させて α ー グリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、次いで、この溶液を多孔性合成吸着剤に接触させて精製し、 α ー グリコシル ヘスペリジンを採取することを特徴とする α ー グリコシル ヘスペリジンの製造方法。

- (6) ヘスペリジンに D ーグルコース 残悪が等モル 以上 α 結合している α ーグリコシル ・ ヘスペリ ジンを有効成分として含有せしめた化粧品。

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、新規 α ーグリコシル へスペリジンとその製造方法並びに用途に関し、更に詳細には、ヘスペリジンに ローグルコース 残基 が等 モル以上 α 結合している α ーグリコシル へスペリジンと α ーグルコシル 協化合物 とを含有する 溶液に 糖転移 酵素 を作用 させて 新規 α ーグリコシル へスペリジンを生成せしめ、これを採取することを特徴とする α ーグリコシル

ヘスペリジンの製造方法、並びに、この方法で得られるαーグリコシル ヘスペリジンを含有せしめることを特徴とする飲料、加工食品などの飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤すなわち抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤などの化粧品などに関する。

[従来の技術]

ヘスペリジンは、次に示す化学構造を有し、毛 細血管の強化、出血予防、血圧調整などの生理作 用を持つビタミンPとして、また、黄色色素とし て古くから知られ、食品、医薬品、化粧品などに 利用されている。

ヘスペリジンの化学構造

しかしながら、ヘスペリジンは水に難溶で、室温では50Lの水にわずか1g程度(約0.002V/V%) しか溶けず、使用上困難を極めている。

これを改善する方法としては、ヘスペリジンに ジメチル硫酸を作用させ、ヘスペリジンのメチル 誘導体にして水溶性を増大する方法が知られてい

しかしながら、この方法は、有機化学的手法により行われ、反応に有悪なジメチル硫酸が使用され、得られる誘導体の精製に相当の困難が伴うことにより、その無寒性、安全性の確保、経済性などの点で満足すべきものではない。また、得られるメチル誘導体が苦味を有している欠点もある。 [発明が解決しようとする課題]

従来のヘスペリジンまたはその誘導体の欠点を 解消し、水溶性に優れ、実質的に無味無臭で、 趣性の懸念もなく、加えて、生体内で生理活性を充 分発揮しうるヘスペリジン誘導体の実現が強く望 まれている。 ビタミンPは、生体内で、ビタミンCの生理活性、例えば、生体結合組織の主成分であるコラロケンの合成に必要なプロリンやリジンのヒドクロシル化反応に関与し、また、例えば、チトクロームCのFe+++を選元してFe++にするなどの酸化還元反応に関与し、更には、白血球増加による免疫増強作用に関与するなどを増強することが知られており、生体の健康維持、増進に重要な役割をなしている。

[課題を解決するための手段]

本発明は、上記欠点を解消するためになされた ものであって、とりわけ、生化学的手法を利用し て、新規ヘスペリジン誘導体を目指して鋭意研究 した。

その結果、ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に搪転移酵素を作用させることにより、水溶性に優れ、実質的に無味無臭で、毒性の悪念もなく、生体内で容易に加水分解され、ヘスペリジン本来の生理活性を発揮しうる新規αーグリコシル ヘスペリジンの生成しうることを見い出し、その製造方法並びに飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤、化粧品などへの用途を確立して本発明を完成した。

また、この糖転移反応により生成したαーグリコシル ヘスペリジンを精製するに際しては、その反応溶液と多孔性合成吸着剤とを接触させ、その吸着性の違いを利用することにより、容易に精製できることも見い出し本発明を完成した。

従って、本発明のαーグリコシル ヘスペリジ

ンの製造方法は、従来技術の欠点を一挙に解消し、 その工業化の実現を極めて容易にするものである。 以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いるヘスペリジンは、高度に精製されたヘスペリジンに限る必要はなく、ヘスペリジンと、例えば、シトロニン、ナリンジン、ルチンなどのフラボノイド配搪体との混合物、更には、ヘスペリジンを含有している各種植物由来の抽出物、またはその部分精製物などが適宜使用できる。

植物組織としては、例えば、柑橘類の果実、果 皮、未熟果などが有利に利用できる。

従って、αーグリコシル ヘスペリジンの生成 を容易にするためには、糖転移酵素に好適なαー マルトトリオース、マルトテトラオースなどのマルトオリゴ糖、または D E 約10 乃至70 の融粉部分加水分解物などが好適であり、シクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ(E C 2.4.1.19) を用いる際には、シクロデキストリンま

例えば、糖転移酵素として、αーグルコシダー

ゼ(EC 3.2.1.20) を用いる際には、マルトース、

グルコシル糖化合物が選ばれる。

ストリシークルカフトランスフェラーを(EC 2.4.1.18) を用いる際には、シクロデキストリンまたはDE1以下の澱粉糊化物からDE約60の澱粉部分加水分解物などが好適であり、αーアミラーゼ(EC 3.2.1.1)を用いる際には、DE1以下の澱粉糊化物からDE約30のデキストリン、澱粉部分加水分解物などが好適である。

また、反応時のαーグルコシル糖化合物濃度は、 ヘスペリジンに対して約0.5万至50倍の範囲が好適である。

反応時のヘスペリジン含有版は、ヘスペリジンをできるだけ高濃度に含有するものが望ましく、 例えば、ヘスペリジンを、懸濁状で、または、高温で溶解させた、もしくはpH7.0を魅えるアル

カリ側 P Hで溶解させた溶液状で高濃度に含有する溶液が適しており、その濃度は約0.005W/V%以上の高濃度、望ましくは、約0.01乃至10.0W/V% 含有している溶液を意味する。

本発明に用いる糖転移酵素は、ヘスペリジンとこの酵素に好適な性質のαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に作用させる時、ヘスペリジンを生を分解せずにαーグリコシル ヘスペリジンを生成するものであればよい。

例えば、αーグルコシダーゼは、プタの肝臓、ソパの種子などの動植物組織由来の酵素、または、ムコール(Hucor)属、ペニシリウム(Penicillium)属などに属するカビ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)属などに属する酵母などの微生物を栄養培地で培養し得られる培養物由来の酵素が、シクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)属、クレプシーラ(Klebsiella)属などに属する細菌培養物由来の酵素が、αーアミラーゼは、パチルス属などに属する細菌、または、アスペルギルス

(Aspergillus) 属などに属するカビ培養物由来の酵素などが適宜選択できる。

これらの糖転移酵素は、前記の条件を満足しさ えずれば、必ずしも精製して使用する必要はなく、 通常は、粗酵素で本発明の目的を連成することが できる。

必要ならば、公知の各種方法で精製して使用してもよい。また、市販の搪転移酵素を利用することもできる。

使用酵素量と反応時間とは、密接な関係があり、 通常は、経済性の点から約5万至80時間で反応を 終了するように酵素量が選ばれる。

また、固定化された拡転移降素をパッチ式で操 り返し、または連続式で反応に利用することも適 宜選択できる。

本発明の反応方法は、ヘスペリジンの仕込濃度 を高めた状態で搪転移酵素を作用させるのが望ま しい。

例えば、ヘスペリジンを懸濁状で反応せしめる場合には、約0.1万至2.0V/V%の懸濁状へスペリ

ジンと適量のαーグルコシル糖化合物とを含有するヘスペリジン高含有液を、ρH約4.5万至6.5とし、糖転移酵素の作用しうるできるだけ高温、具体的には、約70万至90℃に維持し、これに糖転を酵素を作用させると、ヘスペリジンがαーグリコシル ヘスペリジンが容易に高速度に生成する。

また、例えば、ヘスペリジンをpH7.0を越えるアルカリ側で反応せしめる場合には、pH約7.5万至10.0の水に約0.2万至5.0V/V%のヘスペリジンを加熱溶解し、これに適量のαーグルコシル糖化合物を溶解して得られるヘスペリジン高合育液を、糖転移酵素の作用しうるできるだけ高pH、高温、具体的には、pH約7.5万至10.0、温度約50万至80℃に推持し、これに勝転移酵素を作用させるとαーグリコシル ヘスペリジンが容易に高温度に生成する。

この際、アルカリ性溶液中のヘスペリジンは、 分解を起しやすいので、これを防ぐため、できる

ジン溶液も、酸性水溶液で p H 調整することによりへスペリジンが析出を起し易いので、その p H 調整前に、 α ーグルコシル糖化合物や少量の α ーグリコシル ヘスペリジンなどを共存させて ヘスペリジンの析出を抑制しつつ糖転移反応を開始することも有利に実施できる。

また、更に必要ならば、反応前のヘスペリジンの溶解度を高め、ヘスペリジンへの糖転移反応を容易にするために、ヘスペリジン高含有液に水と互いに溶解しうる有機溶媒、例えば、メタノール、エタノール、ロープロパノール、isoープロパノール、ロープタノール、アセトール、アセトンなどを共存させることも適宜銀択できる。

このようにして α ー グリコシル へスペリジンを生成せ しめた 反応溶液は、そのままで α ー グリコシル へスペリジン製品にすることもできる。 通常は、反応溶液を濾過、濃縮してシラップ状の、更には、乾燥、粉末化して粉末状の α ー グリコシル へスペリジン製品にする。

だけ遮光、嫌気下に維持するのが望ましい。

更に、前記条件を組み合せる方法、例えば、約0.5万至10.0 V/V 96のヘスペリジンと適量のαーグルコシル館化合物とを含有するヘスペリジン高含有液をρ H 約7.5万至10.0、温度約50万至80℃に維持し、これに舘転移酵素を作用させると、αーグリコシル ヘスペリジンが容易に高濃度に生成する。

また、ヘスペリジンとして、例えば、約0.1万至1.0規定のカセイソーダ水溶液、カセイカリ水溶液、炭酸ソーダ水溶液、水酸化カルシウム水、アンモニア水などの強アルカリ性水溶液に約0.5万至10.0V/V%の高濃度に溶解させたものを用い、これに塩酸、硫酸などの酸性水溶液を加えて酵素の作用し,うるpHに調整するとともにαーグルコシル糖化合物を加え、直ちに糖転移酵素を作用させることは、αーグリコシル ヘスペリジンを容易に高濃度に生成させることとなるので極めて好都合である。

この際、せっかく高濃度に溶解させたヘスペリ

本製品は、ビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外糠吸収剤などとして、飲食物、増好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、プラスチック製品などの用途に有利に利用できる。

更に、精製されたαーグリコシル ヘスペリジン製品を製造する場合には、多孔性合成吸着剤による吸着性の差を利用してαーグリコシル ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物などの夾雑物とを分離して精製すればよい。

本発明でいう多孔性合成樹脂とは、多孔性で広い吸着表面積を有し、かつ非イオン性のスチレンージピニルベンゼン重合体、フェノールーホルマリン樹脂、アクリレート樹脂、メタアクリレート樹脂などの合成樹脂であり、例えば、市販されているRohm & Haas社製造の商品名アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-2、アンパーライトXAD-8、アンパーライトX

A D - 11、アンパーライト X A D - 12、三菱化成 工業株式会社製造の商品名ダイヤイオンHP - 10、 ダイヤイオンHP - 20、ダイヤイオンHP - 30、 ダイヤイオンHP - 40、ダイヤイオンHP - 50、 I M A C T I 社製造の商品名イマクティ S y n -42、イマクティ S y n - 44、イマクティ S y n -

本発明のαーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめた反応液の精製方法は、反応液を、例えば、多孔性合成吸着剤を充填したカラムに通液すると、αーグリコシル ヘスペリジンおよび比較的少量の未反応ヘスペリジンが多孔性合成吸着剤に吸着するのに対し、多量に共存するαーグルコシル調化合物、水溶性糖類は吸着されることなくそのまま流出する。

必要ならば、蟾転移酵素反応转了後、多孔性合成吸着剤に接触させるまでの間に、例えば、反応被を加熱して生じる不溶物を濾過して除去したり、ケイ酸アルミン翻マグネシウム、アルミン酸マグネシウムなどで処理して反応液中の蛋白性物質な

この有機溶媒によるαーグリコシル ヘスペリジンおよび未反応ヘスペリジンの溶出操作は、同時に、多孔性合成吸着剤の再生操作にもなるので、この多孔性合成吸着剤の繰り返し使用を可能にする。

また、本発明の多孔性合成吸着剤による精製は、αーグルコシル糖化合物、水溶性糖類だけでなく、水溶性の塩類などの夾雑物も同時に除去できる特長を有している。このようにして得られるαーグリコシル ヘスペリジンは、次の特長を有している。

- (1) ヘスペリジンと比較してαーグリコシル ヘスペリジンは、水溶性が極めて大きい。
- (2) ヘスペリジンと比較してαーグリコシル ヘスペリジンは、耐光性、安定性が大きい。
- (3) α グリコシル ヘスペリジンは、体内の 酵素によりヘスペリジンとグルコースとに加 水分解され、ヘスペリジン本来の生理活性 (ビタミンP)を示す。また、ビタミンCと の併用により、それらの持つ生理活性を増強

とを吸着除去したり、強酸性イオン交換樹脂(H型)、中塩基性または弱塩基性イオン交換樹脂(OH型)などで処理して脱塩するなどの精製方法を組み合せて利用することも随意である。

前述のようにして、多孔性合成吸着利力ラムに 選択的に吸着したαーグリコシル ヘスペリジン と比較的少量の未反応ヘスペリジンとは、希アルカリ、水などで洗浄した後、比較的少量の有機 媒または有機溶媒と水との混合液、例えば、メタ ノール水、エタノール水などを適液すれば、まず、 αーグリコシル ヘスペリジンが溶出し、適液量 を増すか有機溶媒 後度を高めるかすれば未反応へ スペリジンが溶出してくる。

この α ー グリコシル へ スペリジン 高含有溶出 版を 蒸溜処理 して、まず 有機溶媒を 溜去した 後、 適当な 濃度にまで 濃縮すれば α ー グリコシル へ スペリジンを主成分とするシラップ状製品が得られる。 更に、これを乾燥し粉末化することによって、 α ー グリコシル へ スペリジンを主成分とする粉末状製品が得られる。

させることができる。

(4) αーグルコシル糖化合物を含有する製品の場合には、αーグリコシル ヘスペリジンの効果を発揮するのみならず、αーグルコシル糖化合物が賦形、増量効果や、甘味効果を発揮することができ、また、αーグリコシルへスペリジンの効果を発揮することができ、また、実質的に無味、無臭なので自由に調味、調香することができる。

これらの特長から、αーグリコシル へスペリンと女全性の高い天然型のピタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、ウィルス性疾患、細菌性疾患、循環器疾患、悪性腫瘍など感受性疾患の予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、 英肌剤、 色白剤など化粧品、更には、プラスチック製品などに有利に利用することができる。

その他、タバコ、トローチ、肝油ドロップ、 複合ビタミン剤、口中情涼剤、口中香錠、うがい 薬、経管栄養剤、内服薬、注射剤、練歯みがき、 口紅、リップクリーム、日焼け止めなど各種固状、 ペースト状、液状の嗜好物、感受性疾患の予防剤、 治療剤、すなわち、抗感受性疾患剤、美肌剤、色 白剤などの化粧品などに配合して利用することも 有利に実施でき、更には、紫外線吸収剤、劣化防 止剤などとしてブラスチック製品などに配合して 利用することも有利に実施できる。

投与量は、含量、投与経路、投与頻度などによって適宜調節することができる。通常、αーグリコシル ヘスペリジンとして、成人1日当り、約0.0

01乃至10.0グラムの範囲が好適である。

また、化粧品の場合も、大体、前述の予防剤、 治療剤に準じて利用することができる。

αーグリコシル ヘスペリジンを利用する方法 としては、それらの製品が完成するまでの工程で、 例えば、混和、混捏、溶解、浸渍、浸透、散布、 塗布、喷霧、注入など公知の方法が適宜選ばれる。

以下、本発明のαーグリコシル ヘスペリジンの一例を実験で説明する。

実験 1 αーグリコシル ヘスペリジンの調製

(1) 糖転移反応

ヘスペリジン1 重量部およびデキストリン(DE20) 6 重量部に水5,000 重量部を加えて加熱、 溶解し、これにパチルス・ステアロサーモフィルス (Bacillus stearothermophilus) 由来のシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ (株式会社林原生物化学研究所販売)をデキストリングラム当り20単位加え、ρH6.0、70℃に維持して18時間反応させ、その後、加熱失活させ、αーグリコシル ヘスペリジン 含有液を得た。

(2) 精 製

(1)の方法で得た反応液を濾過し、濾液を多孔性合成吸着剤、商品名ダイヤイオンHP-10 (三菱化成工業株式会社販売)を充塡したカラムにSV2で遺液した。このカラムを水で洗浄後、50 V/V % エタノールを通液し、この溶出液を緩縮して溶媒を溜去し、粉末化して淡黄色のαーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を原料のヘスペリジン重量に対して約130%の収率で得た。

(3) アミラーゼによる加水分解

(2)の方法で得たαーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を水に1V/V%に溶解し、これにグルコアミラーゼ(ΕC 3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)を該標品グラム当り100単位加え、pH5.0、55℃に維持して5時間反応させた。反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾を多孔性合成吸着剤、商品名ダイヤイオンHPー10(三菱化成工業株式会社販売)のカラムにSV2で過被した。その結果、溶液中のαーグリ

コシル へスペリジンと未反応へスペリジンと 相切 が多孔性合成吸着することなく流出した。次いで、カラムを水で遺依、洗浄した後、エタノール水溶液 み度を段階的に高めながら遺液し、 なーグリコシル へスペリジン 爾岳 [II]を 固形物当り原料のへスペリジン 重量に対して約70%の 収率で得た。

また、グルコアミラーゼに代えて、βーアミラーゼ(EC 3.2.1.2)、(生化学工業株式会社販売)を用いて、前述の方法に準じて、αーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を加水分解し、精製、繊縮、粉末化して、淡黄色のαーグリコシル ヘスペリジン標品[III]を原料のヘスペリジン量量に対して約70%の収率で得た。

実験 2 αーグリコシル ヘスペリジンの理化 学的性質

(1) 水溶性の向上

実験 1 (1) の方法で糖転移反応し調製したαー

合と間じ286ns付近に吸収極大を有していた。

(4) 赤外線吸収スペクトル

KBr錠剤法によって、αーグリコシル へスペリジン標品の赤外線吸収スペクトルを調べた。αーグリコシル ヘスペリジン標品[I]の結果を第2図に示す。

- (5) 加水分解に対する安定性
- (a) αーグリコシル ヘスペリジン概品は、プタの肝臓由来のαーグルコシダーゼ(EC 3.2.1,20) により加水分解され、ヘスペリジンとDーグルコースとを生成する。
- (b) β-グルコシダーゼによっては加水分解されない。
- (6) 薄層クロマトグラフィー
- (a) 分析方法

ブレート;メルク社製、

商品名キーゼルゲル80F254

展開啓媒: n - プタノール: 酢酸: 水 = 4:2:1 発色剤 : 1 W/W 96 硫酸第二セリウム10 W/W 96 グリコシル ヘスペリジン含有液と、この方法で用いる酵素を予め加熱失活させて実験 1 (1)の方法に準じて処理した対照液とを、4 ℃の冷室に2 日間放置したところ、対照液では、ヘスペリジンが析出して白濁したのに対し、 α ーグリコシル ヘスペリジン含有液は透明のままであった。

従って、糖転移反応により生成したαーグリ コシル ヘスペリジンは、水溶性が著しく向上 している。

(2) 溶剤に対する溶解性

αーグリコシル ヘスペリジン標品は、水、 0.1規定カセイソーダ、0.1規定塩酸に易溶、メ タノール、エタノール微溶、エーテル、ペンゼ ン、クロロホルムに不溶。

(3) 紫外線吸収スペクトル

αーグリコシル ヘスペリジン 標品を0.1規 定力セイソーダ溶液に溶解して、紫外線吸収スペクトルを調べたところ、標品[II]、標品[II] および標品[III]のいずれも、ヘスペリジンの場

硫酸水溶液

(b) 分析 桔果

αーグリコシル ヘスペリジン標品を分析したところ、標品[I]の場合には、RfC.69のヘスペリジンのスポット以外に、新たに、RfO.48、0.34、0.22、0.16、0.10、0.04および原点にスポットが認められ、標品[II]の場合には、RfO.48のスポットが認められ、標品[III]の場合には、RfO.48、0.34のスポットが認められた。

以上の理化学的性質から、標品[I]、標品
[II] および標品[III] に含まれるRf0.48を示す
物質は、ヘスペリジン1モルにローグルコース
残器が1モルα結合したαーグルコシル
ヘスペリジンと判断され、標品[I] および標品
[III] に含まれるRf0.34を示す物質は、ヘスペリジン1モルにローグルコースが2モルα結合したαージグルコシル ヘスペリジンと判断され、同様に、標品[I]に含まれるRf0.22
以下の複数のスポットを示す物質は、ヘスペ

リジン1 モルに D ーグルコース残基が3 モル以 上α結合したαーオリゴグルコシル ヘスペ リジンであると判断される。

このように、本願発明のαーグリコシルへスペリジンはヘスペリジンにDーグルコース残基が等モル以上α結合した水溶性良好な新規ヘスペリジン糖誘導体であって、生体内に摂取されると、αーグルコシダーゼによって容易に加水分解され、ヘスペリジン本来の生理活性を発揮する。

実験 3 急性毒性

7周令のdd系マウスを使用して、実験 1 (2) の方法で 期製した α ーグリコシル へスペリジン 標品[I]を経口投与して急性 毒性テストをしたところ、5gまで死亡例は見られず、これ以上の投与は困難であった。

従って、本物質の毒性は極めて低い。なお、 実験1(3)の方法で調製したαーグリコシル へ スペリジン標品[II]を用いて本テストを行った ところ、同様の結果を得、毒性の極めて低いこ

ペリジンなどの α ーグリコシル へスペリジンに転換していた。反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾液を、常法に従って、イオン交換樹脂 (日型および〇日型) で脱塩精製し、濃燥してシラップ状の α ーグルコシル 糖化合物を含有する α ーグリコシル へスペリジン製品を、固形物当り原料重量に対して約90%の収率で得た。

本品は、ビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、プラスチック製品などの用途に有利に利用できる。

実施例 A - 2 α - グルコシル ヘスペリジン 実施例 A - 1 の方法に準じて調製したシラップ状のα - グルコシル糖化合物を含有するα - グリコシル ヘスペリジン製品1 重量部を水4 重量部に溶解し、これにグルコアミラーゼ(EC3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)をα - グ

とが判明した。

以下、本発明の実施例として、 α ー グリコシル へスペリジンの製造例を実施例 A で、 α ー グリコシル へスペリジンの用途例を実施例 B で述べる。

リコシル ヘスペリジン製品固形物グラム当り 100単位加え、50℃、5時間反応させた。反応液 を薄層クロマトグラフィーで分析したところ、 αーグリコシル ヘスペリジンは、αーグルコ シル ヘスペリジンに転換していた。

αーグルコシル ヘスペリジンを酸で加水分解したところ、ヘスペレジン1モルに対し、Lー

ラムノース1モル、D-グルコース2モルを生成し、また、αーグルコシル ヘスペリジンに、プタの肝臓から抽出し部分精製したαーグルコシダーゼを作用させると、ヘスペリジンとD-グルコースとに加水分解されることが判明した。

本αーグルコシル ヘスペリジンは、高度に 精製された水溶性の高いビタミンP強化剤として、また、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、 品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤な どとして、飲食物、嗜好物、抗感受性疾患剤、 化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A - 3 α - グリコシル へスペリジンへスペリジン1 重量部を水500重量部に p H 9. 5 で加熱溶解し、別にデキストリン(D E 8) 10 重量部を水10重量部に加熱溶解し、次いで、これら溶液を混合し、これにシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼをデキストリングラム当り30単位加え、 p H 8.2、85 でに維持して撹拌しつつ40時間反応させた。

反応被を薄覆クロマトグラフィーで分析した

階好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、 プラスチック製品などの用途に有利に利用でき る。

実施例 A - 4 α - グリコシル ヘスペリジン (1) α - グルコシダーセ標品の調製

マルトース4 V/V%、リン酸1カリウム0.1 V/V%、硝酸アンモニウム0.1 V/V%、硫酸マグネシウム0.05 V/V%、塩化カリウム0.05 V/V%、ボリベプトン0.2 V/V%、炭酸カルシウム1 V/V%(別に乾熱越園して植蘭時に無菌的に添加)および水からなる液体培地500重量部にムコール・ジャパニカス(Nucor javanicus) IFO 4570を温度30 ℃で44時間振盪培養した。培養終了後、園糸体を採取し、その湿菌糸体48重量部に対し、0.5 M酢酸緩衝液(pH5.3)に溶解した4 M尿素液500重量部を加え、30 ℃で40時間静置した後、流空0.9 飽和とし、4 ℃で一夜放置して生成した場析物を濾取し、0.01 M酢酸緩衝液(pH5.3)50重量部に熱濁溶解した後、流心分

ところ、ヘスペリジンの約80%がαーグリコシ ル ヘスペリジンに転換していた。

反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し濾液を多孔性合成吸着剤、商品名アンバーライト XAD-7 (Rohm & Haas社製造)の カラムにSV1.5で適液した。

その結果、溶液中のαーグリコシル ヘスペリジンと未反応ヘスペリジンとが多孔性合成吸着剤に吸着し、デキストリン、オリゴ糖、塩類などは吸着することなく流出した。

このカラムを水で通被、洗浄した後、50V/V%メタノールを 遺被して、 αーグリコシル へスペリジンおよびヘスペリジンを溶出し、これを 張縮し、粉末化して、粉末状αーグリコシル ヘスペリジン製品を原料のヘスペリジン重量に 対して約120%の収率で得た。

本品は、水溶性の高いビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、

離して上清を採取し、αーグルコシダーゼ標品 とした。

(2) αーグリコシル ヘスペリジンの調製

へスペリジン5重量部を0.5規定カセイソーダ 溶液100重量部に加熱溶解し、これに0.01規定 塩酸溶液を加えて p H 9.5にするとともにデキ ストリン(DE30) 20重量部を加え、直ちに(1) の方法で調製した α - グルコシダーゼ標品10重量部を加え、p H 8.5に維持して撹拌しつつ55 ∇ で40時間反応させた。

反応液を実施例A-3と同様に精製し、濃縮、粉末化して粉末状α-グリコシル ヘスペリジン製品を原料のヘスペリジン重量に対して約11 0%の収率で得た。

本品は、実施例Aー3の場合と同様に、水溶性の高いビタミンP強化剤としてばかりでなく、 安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、 安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線 吸収剤などとして、各種用途に利用できる。

実施例 B-1 ハードキャンディー

還元要芽糖水飴(林原商事株式会社販売、登録商標マピット)1.500重量部を加熱し、減圧下で水分約296以下になるまで濃糖し、これにクエン酸15重量部および実施例A-3の方法で得た粉末状αーグリコシル ヘスペリジン1重量部および少量のレモン香料を混和し、次いで常法に従って、成形、包装してハードキャンディーを得た。

本品は、ビタミンPを強化した黄色のレモンキャンディーであって、低う蝕性、低カロリーである。

実施例 B-2 フキの水煮

フキを皮むきし、適当な長さに切断して、弾い食塩水に数時間浸し、これを実施例 A - 1 の方法で得たシラップ状 α - グリコシル へスペリジンと青色1号とを配合して調製した緑色着色料を含有する液で煮込んで、緑色の鮮かなフ

本品はビタミンPを強化した甘味料で健康食品として好適である。

実施例 B-5 サンドクリーム

結晶性 αーマルトース(林原株式会社製造、登録商標ファイントース)1,200重量部、ショートニング1,000重量部、実施例 Αー3の方法で得た粉末状αーグリコシル ヘスペリジン10重量部、レシチン1重量部、レモンオイル1重量部、パニラオイル1重量部を常法により混和してサンドクリームを製造した。

本品は、ビタミンP強化、黄色着色したサンドクリームで、口当り、溶け具合、風味とも良好である。

実施例 B-6 錠 剤

アスコルビン酸20 重量部に結晶性 β ーマルトース 13 重量部、コーンスターチ4 重量部および実施例 A ー 2 の方法で得た粉末状αーグルコシルへスペリジン3 重量部を均一に混合した後、直径12mm、20 R 杵を用いて、打綻し錠剤を得た。本品は、アスコルビン酸とαーグルコシル

キの水煮を得た。

本品は、各種和風料理の材料として色どりを ばえるとともに、食物繊維としての生理効果を も発揮する。

実施例 B-3 求 肥

モチ種政約1重量部に水1.2重量部を混合し、加熱期化しつつ、これに砂糖1.5重量部、結晶性 B ーマルトース(林原株式会社製造、登録所標サンマルト)0.7重量部、水約0.3重量部および実施例 A ー 1 の方法で得たシラップ状αーグリコシル ヘスペリジン0.2重量部を混和し、以後、常法に従って、成形、包装して求肥を製造した。

本品は、風味、口当りとも良好な求肥で、きびだんご風の和菓子である。

実施例 B-4 混合甘味料

はちみつ100重量部、異性化館50重量部、黒砂塘2重量部および実施例A-4の方法で得た粉末状αーグリコシル ヘスペリジン1重量部を混合して混合甘味料を得た。

ヘスペリジンとの複合ビタミン剤で、アスコル ビン酸の安定性もよく、飲み易い錠剤である。

実施例 B-7 カブセル剤

酢酸カルシウム・一水塩10重量部、 L ー乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、マルトース57重量部、実施例 A ー 2 の方法で得たαーグルコシル へスペリジン20重量部及びエイコサベンタエン酸20%含有ァーシクロデキストリン包接化合物12重量部を均一に混合し、顆粒成形機にかけて顆粒とした後、常法に従って、ゼラチンカプセルに封入して、一カプセル150mg入のカブセル剤を製造した。

本品は、血中コレステロール低下剤、免疫賦活剤、美肌剤などとして、感受性疾患の予防剤、治療剤、健康増進用食品などとして有利に利用できる。

実施例 B-8 軟 青

酢酸ナトリウム・三水塩1 重量部、DL - 乳酸 カルシウム4 重量部をグリセリン10 重量部と均 一に混合し、この混合物を、ワセリン50重量部、 木口ウ10 重量部、ラノリン10 重量部、ゴマ油14. 5 重量部、実施例 A ~ 4 の方法で得たαーグリコシル へスペリジン1 重量部及びハッカ油0.5 重量部の混合物に加えて、更に均一に混和して 軟膏を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして、更には外傷、火傷の治癒促進剤などとして有利に利用できる。

実施例 B-9 注 射 剤

実施例A-2の方法で得たα-グルコシル ヘスペリジンを水に溶解し、常法に従って、精 製造過してパイロゲンフリーとし、この溶液を 20mL容アンプルにα-グルコシル ヘスペリジ ン50mgになるように分注し、これを滅圧乾燥し、 材入して注射剤を製造した。

本注射剤は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して筋肉内又は静脈内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、使用に際しての生理食塩水などへの溶解性は極めて良好である。

びリボフラビン0.01重量部からなる配合物を調製する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に充填し、ヒートシールして経営栄養剤を調製した。

本経営栄養剤は、一袋を約300万至500aLの水に溶解し、経営方法により鼻腔、胃、腸などへの経口的又は非経口的栄養補給液としても有利に利用できる。

実施例 B-12 浴 用 剤

DL-乳酸ナトリウム21重量部、ビルビン酸ナリトウム8重量部、実施例 A-1の方法で得た
αーグリコシル ヘスペリジン5重量部及び 若
タノール40重量部を、精製水26重量部及び 若色料、香料の適量と混合し、裕用剤を製造した。
本品は、美肌剤、色白剤として好適であり、
入浴用の湯に100乃至10,000倍に希釈して利用
すればよい。本品は、入浴用の湯の場合と同様
に、洗顔用水、化粧水などに希釈して利用する

実施例 B-13 乳 阪

ことも有利に実施できる。

実施例 B-10 注 射 剤

塩化ナトリウム6重量部、塩化カリウム0.3重量部、塩化カルシウム0.2重量部、乳酸ナトリウム3.1重量部、マルトース45重量部及び実施例A-2の方法で得たα-グルコシル ヘスペリジン1重量部を水1,000重量部に溶解し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を減固したブラスチック容器に250πしずつ充填して注射剤を製造した。

本品は、ビタミンP補給としてだけでなく、カロリー補給、ミネラル補給のための注射剤で、 病中、病後の治療促進、回復促進などに有利に 利用できる。

実施例 B-11 経営栄養剤

結晶性 αーマルトース20 重量部、グリシン1. 1 重量部、グルタミン酸ナトリウム0.18 重量部、 食塩1.2 重量部、クエン酸1 重量部、乳酸カルシ ウム0.4 重量部、炭酸マグネシウム0.1 重量部、 実施例 A - 3 の方法で得たαーグリコシル へ スペリジン0.1 重量部、チアミン0.01 重量部及

ポリオキシェチレンベヘニルエーテル 0.5 重量部、テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビトール1重量部、親油型モノステアリン酸グリセリン1重量部、ピルピン酸 0.5 重量部、ベヘニルアルコール 0.5 重量部、アポガド油1重量部、実施例 A ー 3 の方法で得たαーグリコシルヘスベリジン1重量部、ピタミン8及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱溶解し、これにLー乳酸ナトリウム1重量部、1,3ープチレングリコール5 重量部、カルボキシピニルボニマー 0.1 重量部及び情製水85.3重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合し乳液を製造した。

実施例 B-14 クリーム

モノステアリン酸ポリオキシエチレングリコール2重量部、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5重量部、実施例 A - 2 の方法で得たαーグルコシル ヘスペリジン2 重量部、流動パラ

フィン1 重量部、トリオクタン酸グリセリル10 重量部及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱 溶解し、これにL-乳酸2重量部、1.3ープチレ ングリコール5 重量部及び精製水66 重量部を加 え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の 適量を加えて撹拌混合しクリームを製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

[発明の効果]

本文で述べたごとく、本発明の新規物質である
へスペリジンに D ーグルコース 残基が等モル以上
α結合している α ーグリコシル へスペリジンは、
水溶性に優れ、実質的に無味 無 奥で、 海性の懸念
もなく、 生体内で容易に へスペリジンと D ー グル
コースとに加水分解され、 ヘスペリジン本来の生
理活性を発揮する。

また、このαーグリコシル ヘスペリジンが、 ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物とを含有 する溶液に、糖転移酵素を作用させる生化学的手 法により容易に生成できることより、経済性に優

リジンの工業的製造法とその用途の確立は、飲食品、化粧品、医薬品、プラスチック産業における 工業的意義が極めて大きい。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の一例として、αーグリコシル へスペリジン標品[I]の赤外線吸収スペクトルを示す。

第2図は、本発明の一例として、αーグリコシル ヘスペリジン標品[II]の赤外線吸収スペクトルを示す。

特許出願人

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原

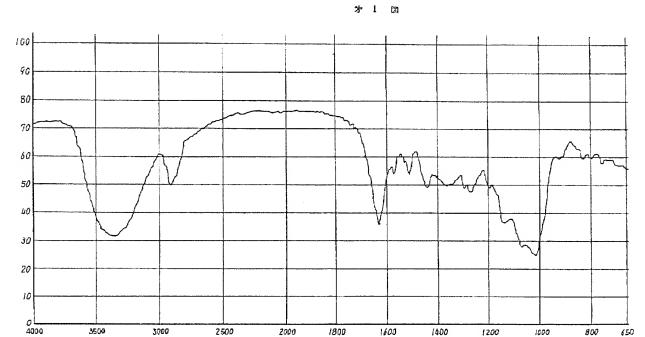


更に、ヘスペリジンの仕込濃度を高めて反応させることができ、 αーグリコシル へスペリジンを容易に高濃度に生成しうることを見い出し、併せて、この反応液の精製に際して、反応液を多孔性合成吸着剤と接触させて αーグリコシル へスペリジンの大量製造を作り、 αーグリコシル へスペリジンの大量製造を優めて容易にするものである。

また、このようにして得られるαーグリコシルへスペリジンは、水溶性良好、耐光性・安定性良好、充分な生理活性を発揮するなどの特徴を有しており、安全性の高い天然型のビタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤、劣化防止剤などとして、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤など化粧品、更には、プラスチック製品などに有利に利用される。

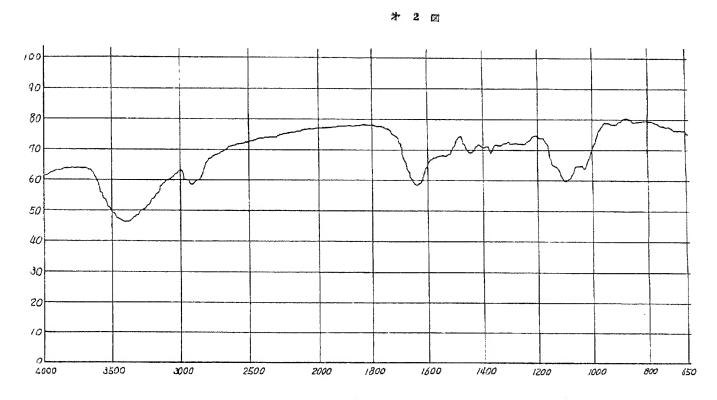
従って、本発明によるαーグリコシル ヘスペ

図面の浄毒



数 (CM-1)

渡



波 数 (C M - !)

手 続 補 正 書 (方式)

平成1年10月25日

特許庁長官 吉 田 文 毅 殷

事件の表示
 平成1年特許額第141902号

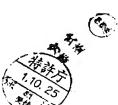
発明の名称
 αーグリコシルヘスペリジンとその製造方法並びに用途

3. 補正をする者 事件との関係 特許出願人 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 ペナンジラネイブリカカク 株式会社林原生物化学研究所 代表者 林 原 (変)

4. 補正命令の日付平成1年9月26日(発送日)

5. 補正の対象 図 面 全 図

6. 補正の内容 別紙のように図面を補正しま



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成9年(1997)3月31日

【公開番号】特開平3-7593

【公開日】平成3年(1991)1月14日

【年通号数】公開特許公報3-76

【出願番号】特願平1-141902

【国際特許分類第6版】

C12P 19/60

A23L 1/30

A61K 7/00

31/70 ABF C07H 17/07

[F1]

C12P 19/60 7432-4B A23L 1/30 Z 9359-4B A61K 7/00 F 9271-4C X 9271-4C

31/70 ABF 8314-4C CO7H 17/07 8615-4C

手腕相正審

平庭8年5月28日

特許行長官 府川 指三 联



1、 事件の表示

學級人學物作顯然人 4 1 9 0 2 引

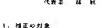
2. 竞项の名跡

ローグリコシル ヘスペリジンとその要者方法並びに消途

1、 額正をする者

部所との帰議 特許出版人 拠山県隣山市下石井17日2番3号 株式会社林道生物化学研究所

代数章 技 財 報 養



5. 補正の内容

明撰备企义

明瀬存金文を、お紙のように拍正します。

1. 発明の名称

a~グリコシル ヘスペリジンとその製造方位並びに用途

2. 特許済建の問題

(1) ヘスペリジンドDーグルコース指導が等モル以上の結合しているホーダリコンル ヘスペリジン。

例 期 音

(2) α グリコンル ヘスペリクンが、蛇化肉、黄色着色剤、酸化防止剤、安定 原、素外線要収剤、美肌剤、変たは色白剤である物所蓄水の範囲第(1)項記載の αープリコシル ヘスペリフン。

(4) ヘスペリジンとαーグルコンル額化合物とを含有する解疾に、糖転診療法を作用させて、αーグリコンル ヘスペリジンを生成でしめ、これを排取することを軽微とするαーグリコンル ヘスペリジンの暴寒方反。

(4) 特較体野素を作用させ、次いで、アミラーゼを化用させ、αーダルコンルへスペリジンおよび/またはαーマルトシル ヘスペリジンを生成せしめ、これを終棄することを特殊とするαーダリコンル ヘスペリジンの製造力法。

(5) ヘスペリジンと。一ブルコンル増化含物とを含省する熔液に、細転事態度を作用させて、αーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、次いで、この熔接を多五性金減吸着期に指摘させて相関し、αーグリコシル ヘスペリジンを模数することを特徴とするαーグリコシル ヘスペリジンの収差方法。

(6) ヘスペリジンにDーグルコース鉄路が等モル以上の結合しているαーグリコシル ヘスペリジンを含有せしめた組成物。

(7) 組織物が、放棄物、放棄受性疾患者、または化粧品であることなが発とする 特許需求の限別類(4)項に使の組成物。

(8) 組成物が、αーグリコンル ヘスペリッンとともに、チナミン、リボフラビン、ビタミンCおよびビタミンBから選ばれるビタミンを含有することを得限とする等許別次の範囲景(6)項または前(7)項記載の根本権。

(3) σーグリコンル ヘスペリジンを、ヘスペリジンを含有する木鉾板に共存させることも特徴とするヘスペリジンの折用抑制方法。

1、発現の評価な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、新風なーグリコシル へスペリジンと、その製造方法、等びに用意に関し、更に詳細には、ヘスペリジンドローグルコース技事が落モル以上a鉄合していると一グリコシル へスペリソン、および、ヘスペリジンと a グルコシル機化合物とを含まする保存に、認知を御事を予問させて、新雄な グリコシルへスペリジンを支払せしめ、これを検験することを付款とする a ーグリコシルへスペリジンの製造力族、全びに、この方法で得られる a ーグリコシル へスペリジンを含有せしめることを特徴とする飲料、即工食品などの飲食物、感受性を集め予防料、治療剤などの抗感受包接単減、美規剤、包白剤などの化粧品など、各種組成物への用途に減する。

[資来の技術]

へスペリジンは、次に来すを学換着を有し、海峡無管の強化、摂動手物、血圧 開製などの生態作用を持つビッミンEとして、また、変色を素として古くから知られ、食品、医酶品、化粧品などに利用されている。

ヘスペリジンの小学権連

ビナミンPは、先体内で、ビナミンCの生使的性、例えば、生体物合知識の主度分であるコラーゲンの合成に必要なプロリンやリジンのヒドロキシルを反応に関係し、また、例えば、チトナロームCのFe***を運用してFe***にするなどの限化な元気度に質与し、更には、自動場等加による免疫機能作用に関与するなどの地

毛膚を推立して、本発明を発展した。

また、この無転移区のにより生成したα・グリコシル へスペリジンを精製するに関しては、その流の帯観と多れ性合成協善規とを接触させ、その機器性の違いを利用することにより、有限に構製であることも見い出し、本発明を発成した

従って、本春明の4・グリコシル ヘスペリジンの製造力法は、延支技術の欠点を一挙に解析し、その工業化の実現を極めて容易にするものである。

以下、本元明を、弊能に説明する。

本発用に用いるヘスペリワンとしては、変度に情報されたヘスペリワンに限る 必要はなく、ヘスペリワンと、何えば、シトロニン、ナリンワン、ルチンなどの フラボノイド取物体との戦争権、更には、ヘスペリワンを含有している各種植物 由来の動出物、ジュース、またはその部分種製物などが、海宮使用できる。

植物組織としては、例えば、柑橘質の梨葉、亜皮、北無具などが、有利に利用で含ま。

本的別に用いるホーダルコシル物化合物としては、同時に用いる物質は算素によってヘスペリジンからローダリコシル ヘスペリジンを生成することのできるものであればよく、例えば、フミロース、アキストリン、シクロアキストリン、マルトオリゴ電などの誘致部分加水分解物、更には、後化製物、微化製物などが、減度受けれる。

使って。 α - グリコシル へスペリジンの生滅を容易にするためには、無転移 経常に任道な α - グルコシル第化合物が選ばれる。

形えば、機能料理者として、αーギルコンダーゼ(R C 3.2.1.20)を用いる場では、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオースなどのマルトオリゴ 機、またはD B 261日の第74の開発機を加水分配能などが軽度であり、シクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ(B C 2.4.1.16)を用いる際には、ンクロデキストリンをたはD 8 (以下の競技関心性からD 8 件40の課題部分別が大分解機などが好適であり、αーアミラーゼ(R C 3.2.1.1)を用いる際には、D F 1以下の競技機化使からD E 263のデオストリン、製物部分加水分解物などが、経過である。 独作用が知られており、生体の健康維持、増累に重要な資素をしている。

へスペリジンの用途は、単に衆重素としてのピタミンド液化剤にとどまらず、 その名学精解、生態作用から、単独で、または他のピクミンなどと使用して、利 えば、黄色染色周、皮化防止剤、安定剤、品質ま良別、実料維製の剤などとして 飲食命などに、また、ウィルス性無思、細菌性疾患、医療経験疾患、解除補助など 都実性疾患の予防剤、治療剤、すなわち技能受性疾患が同じ、実には、黄色変色素 、安定剤、酸化防止剤、学外線吸収剂、プラニン組成抑制剤などとして美肌剤、 色白剤などの化粧品にまで及び、その指金機関は振めて広い。

しかしながら、ヘスペリジンは水に難節で、本質では50Lの水にわずか1g軽度(約0.602代/9%)しか施けず、使用上便難を振かている。

これを重要する方法としては、ヘスペリジンドジメテル範疇を作用させ、ヘスペリジンをメチル誘導体にして、水着性を増大する方法が知られている。

しかしながら、この方法は、有能化学的手法により行われ、反応に有益なジメ チル貨幣を使用することから、得られる職事性の特別に担当の問題が作い、その 機能性、実生性の関係、経済性などの点で異足すべきものではなかった。また。 得られるメチル競響体が音味を行している欠支もある。

[発明が解決しようとする表謝]

従来のヘスペリジン、またはその成準体の欠点を解落し、水液性に優れ、実質 物に無味、需要で、毒性の顧念もなく、加えて、生体内で生理症性を充分発揮し うるヘスペリジン誘導体の実現が強く望まれている。

[幸級を解決するための手表]

本条明は、上配欠らを離削するためのものであって、とりわけ、血化学的手法 を利用して、新規ペスペリジン路等体を目指して設置研究した結果に基づくもの である。

その財機、ヘスペリジンとαーゲルコシル酸化合物とを含有する確認に、糠粒 移動素を作用させることにより、水脂性に低れ、寒質的に無味、無臭で、急性の 勝立もなく、生体内で容易に加水分解され、ヘスペリジン不来の生態新性を発得 する前萬αーグリコシル ヘスペリジンを生成することを見い出し、その解素方 法、並びに動食物、誘受性安卑の予約病、方無病、化粧品など、各種組成物への

また、民志存のα-グルコシル器化合物値度は、ヘスペリジンに対して約6.5万 至58億の報酬が、好通である。

反応時のヘスペリジン含有的は、ヘスペリジンをできるだけ高速度に含有する ものが認ましく、例えば、ヘスペリジンキ、機動状で、または、高級で指摘させ た、もしくはp.H.7.0を規えるアルカリ制p.Hで解解させた解放状で、ヘスペリジ ンを高速度に合わする解析が進しており、そのヘスペリジンの無度は約0,0059/9 外別上の高減度、限ましくは、約0,01万五.10,09/9米含有している複数を意味する

不易明に用いる機能を練業は、ヘスペリジンと、この資素にお適な色質のロー グルコシル値化合作とを、含有する需要に作用させる時、ヘスペリジンを分解せ ずにローグリコシル ヘスペリジンを生成するものであればよい。

例えば、αーグルコンダーゼは、ブタの肝臓、ソパの種子などの動、毛体制能 由来の酵素、または、ムコール(Fiscor)属、ペニシリウム(Penicillius)異な どに関するかぜ、またはサッカロミセス(Saccharsavces)異などに属する酵母な どの差生物を改雑様は下枠供し得られる粒母物由丸の貯まが、シャロマルトデキ ストリン グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)属、クレプシ ラ (Kiebaislia)異などに関する検面 特実物由丸の貯まが、αーフミラーゼは パナルス属などに属する機面 特実物由丸の貯まが、αーフミラーゼは に属するかどの実体とは高する機面、または、アスペルギルス(Aspergillus)属など に属するかどの実体とか、変を強切できる。

ごれらの特殊参削者は、前門の条件を得足しさえずれば、必ずしも効象して使用する必要はなく、通常は、執附者で本発明の目的を連載することができる。

必要ならば、公知の各額方法で特製して使用してもよい。また、市級の種転挙 厳事本利用することもできる。

使用序表量と反応時間とは、映画が関係があり、通常は、拡減なの点から的5万 至80時間で反応を終了するように顕著最が開ばれる。

また、固定化された物質等の様子でガッチ式で終り渡し、反応に、または短端式で遊転的反応に利用することも、適宜挫折できる。

本発明の反志方法は、ヘスペリジンの仕込象度を寄めた状態で、複数を酵素を作用させるのが望ましい。

機スは、ヘスペリジンを書俗状で反応せしめる場合には、約0.1万至2.67/7%の 機構状へスペリジンと適量のαーグルコシル報化合物とを含有するヘスペリジン 資合有数を、p. 14 約4.5万至3.5とし、収収多原素が作用しうるできるだけ高値、 具体的には、約70万乗59でに維持し、これに雑収多原素を作用させると、ヘスペ リジンボαーグリコンル ヘスペリジンに変数するにつれて開助状へスペリジン が無々に伸移し、周季に、αーグリコンル ヘスペリジンがを選に実施度に表現 する。

また、例えば、ヘスペリジンをP117.6を加えるアルカリ側で仅応する場合には、pH的7.5万至10.8の水に約1.2万至5.(1/7分のヘスペリジンを創動業別し、これに測量のローグルコシル機化合物を確解して移られるヘスペリジン高含有技を、機能修理数の作用しらるであるだけ高pH、高端、具体的には、pH的7.5万至10.8、焦度約50万至80℃に接持し、これに無能修算素を作用させるとローグリコシル ヘスペリジンを発展、高温度に生成する。

この原、アルカリを持着中のヘスペリジンは、分解を超しやすいので、これを 坊ぐため、できるだけ深地、神気下に地路するやが原ましい。必要ならば、ヒー アスコルビン酸、エリソルビン酸などの酸を防止剤を地質をせてもよい。

要に、毎に条件を何か合する方法、例えば、約0.3万章13.0至17月のヘスペリッンと適量のa - グルコンル機化合物とを含蓄するヘスペリジン高を有数をp li 約7.6万毫10.0、成此約56万派30でに無押し、これに質紅移原業を作用させると、a - グリコンル ヘスペリジンを容易に、高異度に生成する。

また、ヘスペリジンとして、例えば、約0.1万面1.0型定のカセイソーダ水溶液、カセイカリ水溶液、炭酸ツーダ水溶液、水酸化カルシウム水、アンモニア水などの独サルカリ性水等板に約0.5万至10.0万円分の高温度に溶解させたものを用い、これに複数、溶酸などの溶性水溶液を加えて、薄末が作用しうるヵ月に調整するとともに、ローグルコシル酸化含物を加え、頂もに朝紙姿態発を作用させることは、ローグリコンル ヘスペリジンを容易に、高機度に申減させることができるので、抵的ご野君寺である。

この際、せっかく高機関に推解させたヘスペリジン溶液も、酸性水能設でpH を翻撃するとヘスペリジンが新出る起し易いので、そのpH角複称に、 a ーグル ロシル種化合物で少量のα-グリコシル ヘスペリジンなどを共存させて、ヘスペリジンの新出を抑制しつつ機能移反応を認わすることも有利に更端できる。

また、更に必要ならば、反応前のヘスペリジンの前線更を高め、ヘスペリジンへの報を移反法を容易にするために、ヘスペリジン高会有折に水と互いに解棄し うるも独特法、例えば、メタノール、エタノール、n - プロパノール、(1 a a -プロパノール、ニープタノール。アセト・ル、アセトンなどの振発アルコール、 能数ケトンなどを光光空させることも、複雑選択できる。

また、精彩製成応により生成せしめた比較的点分子のαーグリコンル ペスペリジンは、必要により、そのままで、または、多名生合成味噌製店によりで製した強、ゲルコフミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.4)のαーローグルコンル基の数を低端ませることができる。 個人は、ゲルコフミラーゼを作用させる場合には、αーマルトンル ヘスペリジン处上の高分子物を加水分解し、ゲルコースを生成するとともにαーグルコシル ヘスペリジンを置置を成させることができ、また、月ーアミラーゼを作用させる場合には、αーマルトトリオンル ヘスペリジンとの男子子物を加水分類し、マルトースを生成するとともに、主にαーグルコシル ヘスペリジンとの男子を加水分類し、マルトースを生成するとまた。土にαーグルコシル ヘスペリジンとの男合物を、番種生点をすることができる。

育迷のようにしてαーダリコシル ヘスペリジンを生成すしめた反応格理は、 そのままでαーグリコシル ヘスペリジン製品にすることもできる。 清末は、反 広藤核毛輝鴻、濃陽してシラップ状の、近には、長帆、投来化して粉末状のェー グリコッル ヘスペリジン製品にする。

本製品は、ドタミント強化剤としてばかりでなく、安全性の高い大処理の質色 着色料、酸化性止制、安定剤、結質素良剤、予防剤、物酸剤、紫外線験収剤など として、数食物、降好物、飼料、餌料、飢瘍受性疾患剤、化粧品、ブラスチック 製品など、各種単成物への用除に、名剤に利用でもる。

更に、特製されたα-グリコシル ヘスペリジン製品を製取する場合には、多 乳性合成吸着剤による吸着性の数を利用してα-グリコシル ヘスペリジンとα -グルコシル剤化合物にどの未延伸とか分類して特別すればよい。

平知頃でいつが代立会政制制とは、多れ位で広い校者政制を著し、かつ即イオン社のステレン・タビニルベンゼン重合体、フェノール・未ルマリン機関、フクリレート機関、メチアクリレート機関などの合成機関であり、例えば、市起されているRosm & Hasc社製造の商品をアンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、ダイヤイオンHP・1の・ダイヤイオンHP・1の・ダイヤイオンHP-3の、1 MACT1社製造の関係をイマクティギッカー42、イマクティギッカー44などがある。

必要ならば、物転は排泄の反応終了物、遅れた今を思常者に抜始させるまでの 間に、利えば、反応減を加熱して生じる不増始を施無して数ましたり、ケイ管す ルミン散マグネシウム、アルミン酸マグネシウムなどで処理して反応費中の蛋白 性物質などを研究数型したり、放散性イオン全技機能(月製)、中医薬性または 関連薬性イオン交換機能(の14年)などで処理して税益するなどの構製方法を能 み合せて、利用することも設定である。

責達のようにして、多孔性合成吸音別カラムに選択的に襲発したαーグリコセル へスペリジンと比較的少量の未長志へスペリジンとは、着アルカリ、水などで洗浄した後、比較的少量の名乗終其またはる概念はと水との数金数、例えば、まタノール水、エクノール水はどを選択すれば、まず、αーグリコンル へスペリンンが告出し、通常服を増すかず損給通過皮をあめるかずれば未収応へスペリンンが告出し、通常服を増すかず損給通過皮をあめるかずれば未収応へスペリンンが発出してくる。

このα-グリコシル へスペリジン高音有象出版を患者処理して、まず有機容 基を宿去した後、適当な論理にまで連絡すればα-グリコシル ヘスペリジンタ 工紙分とするシラップ状製品が得られる。更に、これを検集し始末化することによって、ローグリコシル ヘスペリジンを主統分とする勘末状製品が得られる。

この有機者等によるローグリコシル ヘスペリジンセよび未反応へスペリジン の輸出物作は、制物に、多孔性合成整備利の再生操作にもなるので、この多孔性 合成整備所の繰り返し使用を可能にする。

生た。本類間の遅れ性合成長着刺による特無は、ローグルコレル物化合物、水 減性機関だけでなく、水溶性の塩素などの央射物も見時に持去できる物長を有し ている。このようにして移られるローグリコンル へスペリジンは、次の帯長を 有している。

- (1) へスペリジンと比較してモーグリコンル ヘスペリジンは、水相性が振めて大きい。また、ローグリコンル ヘスペリジンは、ヘスペリジンの育まを検討し、飲命返の白曜を抽止する。このことから、ローグリコンル ヘスペリジンは、相相極異計に含まれるヘスペリジンの新出手が傾し、白癬を訪止することのできる安定剤として有利に利用できる。
- (2) ヘスペリジンと比較してαーダリコシル ヘスペリジンは、針光性、玄変性が大会い。
- (4) ローグルコンル数化金銀を含有する製品の場合には、ローグミコレル へ スペリジンの効果を発揮するのみならず、ローダルコシル酸化合物が影光、 消量効果や、甘味効果を要称することができ、また、ローダルコシル酸化合 物を輸出した糖製製品の場合には、ほとんどは彩、物音することのくローダ

リコンル ヘスペリジンの効果を発揮することができ、また、更要的に疾味、無条なので存得に興味、調査することができる。

これらの背長から、ローグリコレル へスペリジンは安全性の高い天然壁のビタミンド銀作期としてほかりでなく、黄色染色剤、酸化防止剤、安定剤、品質変良利、ウィルス性疾患、細胞性疾患、凝悶潜疾患、薬性醫療など感受性疾患の予防剤、治療剤、培養剤、食品剤などとして、紫衣物、神妊物、飼料、具料、氏療型性疾患剤、黄乳剤、色白剤などの化粧品、質には、プラスチック器品など、各種能成物への用油に否則に対して

またローグリコンル ヘスペリソンは、雷林、塩からは、洗味、苦味、苦味などの墨味を有する各用作質とも上く資和し、耐酸性、耐熱性も大きいので、普通一般の飲食物、清厚物、例えば、調味料、和菓子、溶菓子、水煮、飲料、スプレッド、ペースト、黄物、ドン付は、番の加工品、魚肉・水煮加工品、乳・卵加工品、炙菜加工品、果煲加工品、素制加工品、皮质加工品、素料、工品、医制加工品、皮质加工品、果煲加工品、医制加工品、皮质加工品、果煲加工品、医制加工品、皮质加工品、更多加工品、医制力工品、医制力工品、定量的方面的方面分配。

での他、タバコ、トローナ、市場ドロップ、安合ビタミン網、口中需益利、口中需益利、口中需益、うがい悪、日常栄養剤、内設薬、佐利利、解菌みがき、自紅、リップクリーム、日報が止めなど各種職状、ペースト状、液状の噴肝剤、感受性気息の予防が、治療剤、すなわち、抗感受性疾患剤、発肌剤、各自層などの水管料などに配合して利用することも、有利に実施でき、更には、紫外線要認用、分化防止和などとして、アフスチック解説などに配合して利用することも、有利に実施できる。

また、本発質でいう歴受性疾患とは、α-グリコシル ヘスペリシンによって 予防され若しくは治療される疾患であり、それが、例えば、ウィルス性疾患、無 間性疾患、外側に疾患、鬼皮性疾患、リューマテ、腎療育、硬理者疾患、悪性疾 痛などであってもよい。α-グリコシル ヘスペリジンの感受性疾患予診剤、治 動剤は、その目的に応じてその形状を自由に過失できる。例えば、療養剤、点 類、必異剤、うかい剤、性性剤などの疾患、薬者、はっぷ乳、クリームのような

(2)の方法で特たューグリコシル ヘスペリジン類品[1]を水に37/7米に場所し、これにグルコアミラーゼ(R C 3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)を装算場グラム当り102単位加え、p H 5.0、55℃に維持して5時間に応させた。反応放を加助して享者を欠当させ、進力し、連接を多孔的合成物質用、商品名グイヤイオンHP - 10 (三菱化原工業株式会社販売)のカラムに S V 2で通販した。 その結事、淋鉱中の a - グリコンル ヘスペリジンとが応入スペリジンとが応入性合成教育無に設定し、グルコース、塩間などは販売することなく既出した。 次いで、カラムを水で運転、洗浄した被、エタノール水味放進度を設定的に、次はで、カラムを水で運転、残浄した被、エタノール水味放進度を設定的に、あたい、カラムを水で運転、代浄した被、エクノール水味放進度を設定的に、あたい、水が、カスペリジン両分を採取し、お圧影响し、カネ化して、水が、B 0 a - グリコンル ヘスペリジン概念[1]を関形を当り原わのヘスペリジン数差に対して約70%の資率で得た。

また、グルコアミラーゼに代えて、カーアミラーゼ(BC S. E. 1.2、生化学 1.実際式会社販売)を用いて、自述の方法に乗じて、αーグリコシル へスペ リジン西品(1.)を加水分解し、特別、機能、超水化して、液素色のαーダリコ シル へスペリジン報品(3.)を財利のヘスペリジン変量に対して約76%の収率 で移た。

異臓 2 αーグリコシル ヘスペリジンの型化学的性質

(1) 水熔性の自上

実験1(1)の方法で解析器度応し異報したαーグリコシル ヘスペリツン合有 反応後と、この方法で用いる標本を子め加無失終させて実験1(1)の方法に準じ て地難した対限級とを、く宅の冷器に2日間教養したところ、対無数では、ヘス ペリソンが輸出して自帰したのだ対し、αーグリコシル ヘスペリジン含有反 応援は素明のままであった。

差。τ、間報審度度により無度したα-グリコシル ヘスペリジンは、水剤 性が著しく向上している。更言すれば、α-グリコシル ヘスペリジンは、水 総収率に共存する米収応ヘスペリジンの研究を抑討し、波路数の白癬を防止し ている。

(2) 溶剤に対する密解性

α-グリコシル ヘスペリランボ品は、水、0.1規定カセイソーダ、0.1減配

ベースト解、粉彩、駅池、カブセル剤、食剤などの資剤などである。 要剤に当たっては、必要に応じて、幅の成分、例えば、治療剤、生趣所性物質、効生物質、 複動剤、増量剤、安定剤、着も剤、発養剤などの1種また2番以上と併用すること も、種類である。

投与機は、食量、技与経路、技与展歴などによって、通至調酬することができる。 満年、 α - グリコシル へスペリジンとして、成人1日当り、約 C.001ハ東10-0グラムの戦闘が発達である。

また、化粧素の場合も、大体、商品の学历難、治被剤に単じて、利用することができる。

ロ グリコシル ヘスペリジンを利用する方法としては、それら各種譲渡物の 製品が、先減するまでの工程で、例えば、海和、規律、均薄、提供、提薄、数布、機器、往入など、公知の方法が、適宜選ばれる。

以下、本発明のαーグリコシル ヘスペリジンの一例を実験で説明する。

実践 1 αーグリコシル ヘスペリジンの飼泉

(1) 等标单反应

ヘスペリジン|重量割を上びデキストリン(D 2 20)8食量都に水5、00食量量能 を加えて加熱、等難し、これにパナルス・スケアロサーマフィルス(Bestilias starotherephilius) 自来のシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ (表式会社林原生物化学研究所販売) をデキストリングラム 為り 20品 位加え、p 15 6.9、70元に成長して18時间及応させ、ヘスペリジンの的76%をローグリコンル へスペリジンに転換し、その表、加熱失禁させ、ローグリコシル ヘスペリジンと生もに未反応ヘスペリジンを含有する反応後を持た。

(2) 初 軽

(1)の方法で持た反応等を減退し、施販を作礼を合成股密線、商品名グイヤイ オンHP-13(三変化成工業株式会上展見)を充填したカラムにSV2で過度し た。このカラムを水で残争した数、56Y/YMエタノールを選択し、この持治度を 議論して培修を増出し、被文化して接貨色のローグリコシル へスペリジン様 品[1]を取有のヘスペリジン監査に対して約130%の収率で待た。

(8) フミラーゼによる加水分解

塩脂に具体、メタノール、エタノールに激化、エーテル、ペンゼン、クロロホルムに不能。

(3) 要分輪吸収スペクトル

αーゲリコシル ヘスペリジン個語をN.1選定方をイソーダ終訴に無罪して、 紫井建復収スペクトルを調べたところ、新品[I]、振品[I]和よび情品[出]の いずれも、ヘスペリジンの場合と同じ286mm付近に吸収基大を有していた。

(4) 紫外線鉄根スペクトル

KBr放剤技によって、αーグリコンル ヘスペリジン協品のお外級版収スペクトルを慎べた。αーグリコンル ヘスペリジン将品[1]の結果を第1間に、福品[II]の結果を剪2段に示す。

(5) 加水分解に対する安定性

(s) σーグリコシル ヘスペリツン製品は、ブタの町廰市米のαーグルコンタ ーゼ (E C 3.2.1.20) により加水分解され、ヘスペリツノとDーグルコース とを生成する。

(b) ターダルコシダーゼドよっては無水分解されない。

(6) 所服クロマトグラフィー

(3)分析方数

プレート ; メルクは取、 商品名キーゼルゲル50P : s.s.

■ 関連協: ェーブタノール: 摩康: 水=4:2:1

発色制 : 17/7%放棄第二セリウム LB1/1% 荷酸水溶鉄

(b) 分折結果

a - グリコシル ヘスペトプン種品を分析したところ、標品[1]の集合には、REO. 69m ヘスペリジンのスポット取れに、新大に、REO. 48、0.34、0.25、1.16、0.10、1.14本よび原点にスポットが初められ、標品[1]の場合には、REO. 48のスポットが報められ、標品[1]の場合には、REO. 46、0.390スポットが課せられた。

泉上の腹化学的性質から、標品[t]、額品(t)および構造[t]に含まれる Rf0.41を示す物質は、ヘスペリジン[モルにローグルコース表来が1モルロ史 このように、本類発制のαーケリコシル へスペリジンは、へスペリジン にコーグルコース機差が等そル以上α結合した水溶性臭斑な新線へスペリジン 連続導体であって、生体内に摂取されると、αーグルコンダーがによって 客裏に加水分解され、ヘスペリジン本来の生電筋性を発揮する。

RM 3 R 11 8 S

7月今の46系マクスを使用して、実験 1(2)の方法で飼製した。一グリコシルへスペリグン組品[1] 1を経口度与して、急也実在テストをしたところ、体度 lkg is たむ。5 u ま で 起こ何は見られなかった。 詳って、 本体質の事体は無めて せい、 なお、 実験 1(3)の方法で調整した α ーグリコシル へスペリジン 緑品[1] と思いて 関級に本ナストを行ったところ、資効と目機の始末が得られ、通信が 扱めてほいことが、特別した。

以下、不免明の実施例として、εーグリコシル ヘスペリジンの製造例を実 強例点で、ォーグリコシル ヘスペリジンの各種組成物への用値例を実施例及 で述べる。

安徽県 A・1 a ゲリコシル ヘスペリジン

ヘスペリジン[重要部を1機室力をイソーが治滅[重量物で用所し、これに 0.0 1機室拡縮施減を加えて中和するとともにデキストリン (DE 10) 4重量値を加 え、値ちにパケルス・ステソロサーセフィルス内象のシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェシーゼ (特式会社杯が生物で化学研究所展光)をデキ ストリングラム場の20単位加え、pH 8.0、73でに維持して、機体しつつ24時間 まりさせた。反応報を停縮クロマトグラフィーで分析したところ、ヘスペリジン の約10分が、ローグルコシル・ヘスペリジン、ロージグルコシル・ヘスペリジン クン、α・トリグルコシルへスペリジン、α・テトラグルコシル ヘスペリジン、α・ペッタグルコシル ヘスペリジンなどのα・グリコシル ヘスペリジンに表表していた。反応収を加発して終来を失義させ、維みし、維務・、常権に従って、イオン交換制制(日盈和よびG口型)で説均積製し、設めして、シラップ状のα・グルコシル株化合物を含有するα・グリコシル ヘスペリジン
製品を、類素物質り放料重量に対して約91%の収率で得た。

本品は、ビタミンド強化剤としてはかりではく、安全機の高い天然型の黄色 オ色形、強化的止雨、安定剤、品質改良剂、子砂剤、治疹剤、紫外線吸収剤な どとして、飲食物、野肝物、類料、類科、乳酸受性疾患者、化水品、プラスチック製品など、各帯組織物への用値に可来に利用できる。

裏義例 A-2 α-グルコシル ヘスペリジン

実施例Aー1の方法に挙じて調製したシラップ状の αーグルコシル関化会能 を含者するαーグリコシル ヘスペリジン製品(容量的を水化率接触に修订し、 これにグルコアミラーゼ (8 C 3.と.l.8、年代学工事株式会計開光) ティーグ リコシル ヘスペリジン転品関係後グラム当り100年的加え、36年、5時間反応 させた。反応版を修復タロマトグラフィーで分析したところ、αーグリコシル ヘスペリジンは、αーグルコシル ヘスペリジンに転換していた。

表応放を運動して簡素を失いさせ、能通し、解散を多孔性合成性者用、内息名ダイヤイオンヨアー10(三変化成工演株式会社製業)のカラムにSV2で運動した。その結果、機度中のェーグルコンル へスペリジンと来反応へスペリジンとが多孔性合成験を現に吸着し、グルコース、転端などは吸者することでく 険田した。 別いで、カラムを水で造版、洗浄した後、エクノール水溶液施度を 散酵的に高めながら遺散し、αーグルコシル へスペリジンを採取し、減 圧進的し、低 来化して、低 来収の αーグルコンル へスペリジンを提系物当り 終知のスペリジンを提系に対してが40分の収集で増た。

ローブルコンル ヘスペリウンを敵で加水分割したところ、ヘスペリツン1年 ルに対し、ルーラムノース1モル、Dーブルコース2年ルを中域し、また、ロー グルコシル ヘスペリジンに、ブタの肝臓から能対し部分指数したローグルコ ンダーゼを作用させると、ヘスペリジンとDーグルコースとに加水分割される

ことが特殊した。

実施機 A-3 a-グリコシル ヘスペギジン

へスペリツン(基重能を水500重量部にp H 9.5で加熱溶解し、質にデキストリン (D B 6) 10重量報を水10家業期に加熱溶解し、次いで、これを解釈を懸金し、これにシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼを、デキストリングラム当り30原は加え、p R 8.2、65℃に維持して、推持しつつ40時間反応させた。

原広府を専用クロマトグラフィーで分析したところ。 へスペリジンの約80%が α ーグリコシル へスペリジンに転換していた。

反応放水加熱して酵素を失済させた後、液通し、蒸液を多れ後合成吸溶剤、 商品&アンパーライトX人ロー7(Roha & Haas社製油)のカラムに3 VI.5で配表した。

その結果、溶核中のαーデリコシル ヘスペリジンと未反志へスペリジンと が多孔性今ば吸着剤に吸着し、デキストリン、オリゴ域、溶質などは吸着する ことなく液はした。

このカラムを水で温飲、焼炒した飲、597/Y N メタノールを温飲して、ローダリコンル へスペリジンおよびヘスペリジンを終出し、これを譲越し、数本化して、料本数ローダリコシル ヘスペリジン製品を解料のヘスペリジン重量に対して約129%の収料で得た。

本品は、米味作の高いピタミンP除化剤としてばかりでなく、安全性の高い 天然型の質色着色質、操化防止剤、安定剤、品質改良料、予診剤、治療剤、素 外線数収剤などとして、飲食物、増加物、調料、肉料、光感受性疾患剤、化粧 品、プラスナック製品など、各種製成物への用途に有剤に利用できる。

突縮例 Α-4 α-グリコシル ヘスペリジン

(1) αーグルコシダーゼ祭品の変製

マルトース47/V系、リン酸1のもウム0.18/Y等、消除アンモニウム0.18/Y等、関係マグネンウム0.351/Y系、集化カリウム0.851/Y系、式リペプトン0.28/Y%、異像カルシウム18//Y系(其に、依当試養して、接着等には無額的に終知する。)および水からなる核体輸起503重量率に、ムコール・フェバニカス(Bacor Javanicus):FO 4570を展度30でで、44時間接最増重した。均整終了後、原本体を基取し、その展開条件48型最后に対し、0.5M所段維持値(p. 145.3)に推開した4M星末域500重量を拡大、50℃で40時間能した後、20分類した。この上階を抹水中で一項透析した後、液安0.9盤和とし、(で一個放置して作成した框件的を開放し、0.01M所數維持数(p. 145.3)50素最終に機造的線した後、表心分類して上級子気度し、αーグルコシチーゼ等以上に

(2) αーグリコシル ヘスペリジンの調製

ヘスペリジン5型重都を0.5規定カセイソーが廃税103型基準に加強停解し、 これに0.61規定複数解源を加えてpHS.5にするとともに、デキストリン(U B3D)20受量等を向え、責ちに(1)の方法で興製したα-グルコンダーを領品 10数量額を加え、pHS.5に維持して性体しつつ55℃で(6時間反応させた。

要の敵を存着ペーパークロマトグラフィーでを折したところ、ヘスペリジンの約60%が4~グリコシル ヘスペリジンに転換していた。

民店就在実施男人→3と同様に辞表し、即場、拘束化して移来状α→グリ コシル ヘスペリジン製品を設計のヘスペリジン選者に対して約110円の毛甲で集た。

本風は、実験例人・3の場合と同義に、水陰性の高いビタミンP強化例と してはかりでなく、安全性の高い天然界の変色着色制、酸化酸止剤、安定剤 、高質改度剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、各種組成物への 用液に利用できる。

異議例 B-1 ハードキャンディー

造元波芽穂水舶(林原南朝株式企社販売、登集関覆マピット)1,500重量部 七加熱し、病圧下で水分約2%以下になるまで商格し、これにタエン酸15室量 密および宍瓶砂みー3の方法で得た粉木状ューダリコシル へスペリジン1度 **魚曜日よび少蔵のレモン香料を屋和し、灰いで宮絵に覆って、成彩、包製し**

本品は、ビタミンPを被化した面色のレモンキャンディーであって、低う 処性、低力ロリーである。

実施部 B-2 フキの水敷

つまも変わるし、著名な長さど何時して、確いえ族水に教験関係し、これ を実施例A-1の方数で得たシラップはa-グリコシル ヘスペリジンと背 也1号とを配合して要製した緑色着色料を含有する故で救込んで、緑色の勢か なフキの水煮を得た。

本品は、各種和風料棚の材料として包どりを指えるとともに、食物鉄能と しての非難動機をも発展する。

美岩倒 6 8 求 鹿

モチ権軍物[集員等に水1.2重量却を紹合し、加熱郷化しつつ、これに砂糖 1. 『前巻朝』 はお休らーマルトース(は間後式会計製造、登録期間サンマルト) 0.7重量率。水動 0.3重量率お上び重集例Α -- 1.0方指で得たシラップ状α - グリコシル ヘスペリジン3.2重量報を混和し、以後、常注に従って、成形 、包含して水肥を製造した。

本品は、風味、口当りとも良好な水難で、きびだんご風の和菓子である

案推翻 8-4 医食管体料

はちみつ180回亜男、奥性化館50重量期、黒砂糖2重量器お上び寮集例ホー 4の方法で得た粉末状αーグリコシル ヘスペリジン(重量部を混合して配合 甘味料を得た。

本品はピタミンPを強化した甘味料で健康商品として好適である。

実施側 B-5 サンドクリーム

記事性 a · マルト·ス(非原株式会社製造、登録商標ファイントース)」。 200重量体、ショートニング1,000重量部、実施例A - 3の方法で得た技术共 a-ゲリコシル ヘスペリジン10監量板、レシチン1監量額、 レモンオイル1 重量部、パニラオイル1事業組を含比により温和してサンドクリームを製造し t.

アルドαーグルコシル ヘスペリジンが50mgになるように分性し、これを減 圧乾燥し、動入して住船割を製造した。

本注射形は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して新 肉内又は鬱鬱内に吹与できる。また、木品は、低温貯蔵の必要もなく、使用 に際しての生理食塩水などへの整算性は減めて良好である。

双版例 另一1.0 注 料 利

世化ナトリウム6重量制、油化カリウムル3重要器、塩化カルシウム3.2面量 部、乳酸ナトリウム3.1重量報、マルトース45重量部及び実施例表 2の万法 で得たューダルコシル ヘスペリジン(重量器を水1,000面量率に熔解し、常 族に従って、種質能減してパイロゲンフリーとし、この終放を減減したプラ スチック容器に別のLずつ充填して、柱射期を製造した。

木品は、ピタミンP補給としてだけでなく、カロリー特熱、ミネラル補給 のための生材剤で、痰中、香油の治療保護、温度保護などに有限に利用でき

突飛倒 3-11 基實景教制

結晶性は一マルトース20萬量様、グリシン(、)監備物、グルタミン原ナトリ ウム 0.18 重量部、文樹 1.2 重量物、クエン厳 3 定量加、乳酸ガルシフム 0.4 変重 部、炭漬マグネシウム0.1風量器、実施引入~3の方法で添たαーグリコシル ヘスペリジン0.1重量数、チアミン0.31重量参及びリポフラビン6.81重量等 からなる配合物を腐裂する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に 充填し、ヒートシールして発発を発展を確認した。

李級哲学獎剤は、一次を約300万至500mLの水に老飾し、経管方法により昇 **趣、胃、器などへの終口的又は分娩員的栄養補給被としても有利に利用でき**

突施例 B-12 阶 用 剤

DL-乳酸ナトリウム21酸量能。ピルビン糖ナリトウム1度食館、書類例れっ Ιの方法で得たαーグリコシル ヘスペリジン5학量都及びエタノール49重量 翻奏、精製水26重量部及び着色料、資料の商量と紹介し、将用剤を製造した

本品は、ピタミンP強化、黄色着色したサンドクリームで、目当り、強け 異合、風味とも良好である。

奥族例 日-6 鏡 村

アスコルビン酸20変量部に結晶性 8 = マルトース13製量部、コーンスター チ1重量部および実施例と-2の方法で得た粉末状ェーグルコシル ヘスペリ ジン8重量報を均一に復告した後、調磁12ms、20R株を用いて、打鉄し賃利を 得な。

本品は、アスコルビン酸とローグルコシル ヘスペリランとの復合ビタミ ン析で、アスコルビン車の安定性もよく、飲み扱い促発である。

実施例 Bー? カプセル剤

動数カルシウム・一水道10重量部、L−乳酸マグエシウム・三水堆60重量等 、マルトース57世景像、宇宙列トー2の方井で各たローゲルコシル ヘスペ リジン20萬量部及びエイコサペンタエン酸208合在ャーシタロデキストリン名 接化合物12度量弱を均一に設合し、類位成形機にかけて類粒とした後、常体 に従って、ピラチンカプセルに対入して、一カプセル150mg人のカプセル羽を

本品は、血中コレステロール低下層、免疫験表別、参照剤などとして、癌 受性疾患の予助剤、治療剤、健康増進用食品などとして有利に利用できる。

実施例 出一名 数 去

発酵ナトリウム・三水塩1電量器、DL-乳酸カルシウム4玉星部をグリセリ ン10重量罪と均一に指合し、この機合物を、りセリン60至量期、木口ウ10室 各部、ラノリン10重長部、ゴマ油14.5世皇海、東第何Aー4の方法で将立の ーゲリコシル ヘスペリジン1電量器及びハッカ能0.5重量器の融合性に加え 、更に均一に臨和して教育を製造した。

本品は、日節け止め、差別剤、色白剤などとして、更には外傷、火傷の治 **鐵匠滋利などとして、有利に利用できる。**

支施例 8 - 5 往 射 翔

実施領は、2回方はで後たなーグルコシル ヘスペリジンを水に降離し、 常後に従って、特型進進してパイロダンフリーとも、この終業を28rL客アン

木品は、美鼠剤、色白剤として野難であり、大浴用の器に160万厘16,060倍 に看訳して将用すればよい。 本品は、入浴用の器の場合と関値に、洗頭用水 、化粧水などに発釈して利用することも、右利に発展できる。

山城州 用一13 乳 液

ポリオキシエテレンベヘニルエーテル0、3萬量部、テトラオレイン散ポリオ サシエチレンソルビトール1業最像、租油票モノステアリン酸ダリセリン1業 金領、ビルビン戦6.5萬量部、ペペニルアルコール6.5位皇郎、アポガド加1夏 量準、実施例人…3の方法で得たα~グリコシル ヘスペリサン(質量が、ビ タミンR及び防護者の商量を、常改に従って加熱措解し、これにL-英國ナト リウム1型資節、1.3-プチレンダリコール5室業婦、カルボキシピニルポニマ に粉料の遺屋を加えて振神視合し、乳根を転送した。

本品は、日熱け止め、美師別、包白州などとして、有利に利用できる。

実施例 Bートゥ クリーム

サノスデアリン酸ポリオキンエテレングリコール2差換部、自己乳化型モノ ステアリン酸グリセリン5%最初、実施例A~2の万柱で排た4-グルコシル ヘスペリジン2世量等、洗剤パラフィン1室呈部、とりオクテン酸プリャリ ル18重量部及び砂腐製の装量を、含法に従って加熱岩鹎し、これにLー乳ン2 監要懲、 1.5 − プチレンデリコール5室並約及び精製水55箇景都を加え、ホモ ゲナイザーにかけれなし、更に香料の蓄量を加えて模容器会もクリームを繋 造した。

米品は、日提け止め、美汎剤、色白着などとして有利に利用できる。

(発明の効果)

本文で述べたごとし、本発明の新線性質であるヘスペリジンにロッグルコース 独基が零モル以上の総合しているオーグリコシル ヘスペリジンは、水谷性に優 れ、美質的に無味、無具で、森林の無金もなり、丘体内で容易にベスペリブッと ローグルコースとに加水分解され、ヘスペリジン本来の年間抵性を発揮する。

また、このローグリコシル ヘスペリジンが、ヘスペリジンとローグルコシル 響化合物とを含有する確認に、精転事弊実を作用させる生化学的手描により、各 男に生成できることから、経済性に使れ、その工業交流も容易である。

更に、ヘスペリジンの仕込施度を高めて反応させることができ、 ローグリコシ ル ヘスペリジンの製度を、各番に高麗度に生成しうることを見い出し、併せて 、この反応度の得製に際して、反応度を多孔性合成級者剤と指摘させてユーグリ コミル ヘスペリジンを被裂できることも見い問したことにより、 αーグリコシ ル ヘスペリジンの大量度流を、極めて容易にするものである。

また、このようにして暮られるαーグリコシル ヘスペリジンは、水溶性具好 、耐光性・安定性臭好、充分な生理活性を発揮するなどの特徴を有しており、安 全性の高い天然型のピタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防 止素、妄复剤、湿質致良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤、劣化防止剤はどと して、飲食物、物好物、飼料、歯料、抗藤受性灰虫剤、美肌剤、色白剤などの化 表品、更には、プラスチック製品など、各種領政物への形確に有利に利用される

ぜって、本発明によるαーグリコシル ヘスペリジンの工業的製造技と、その 用まの確立は、教食品、化粧品、医薬品、プラスチック産業における工業的重要 が極めて大きい。

4. 図面の簡単な素明

第1 図は、本発明の一例として、αーグリコシル ヘスペリジン排品[:]の訴 外鉢吸収スペクトルを示す。

第2回は、本発明の一例として、αーダリコシル ヘスペリジン様品(α)の影 外級職収スペクトルを示す。

特許出職人

株式会社林展生物化学研究所 代表者 本 別 報 (金)